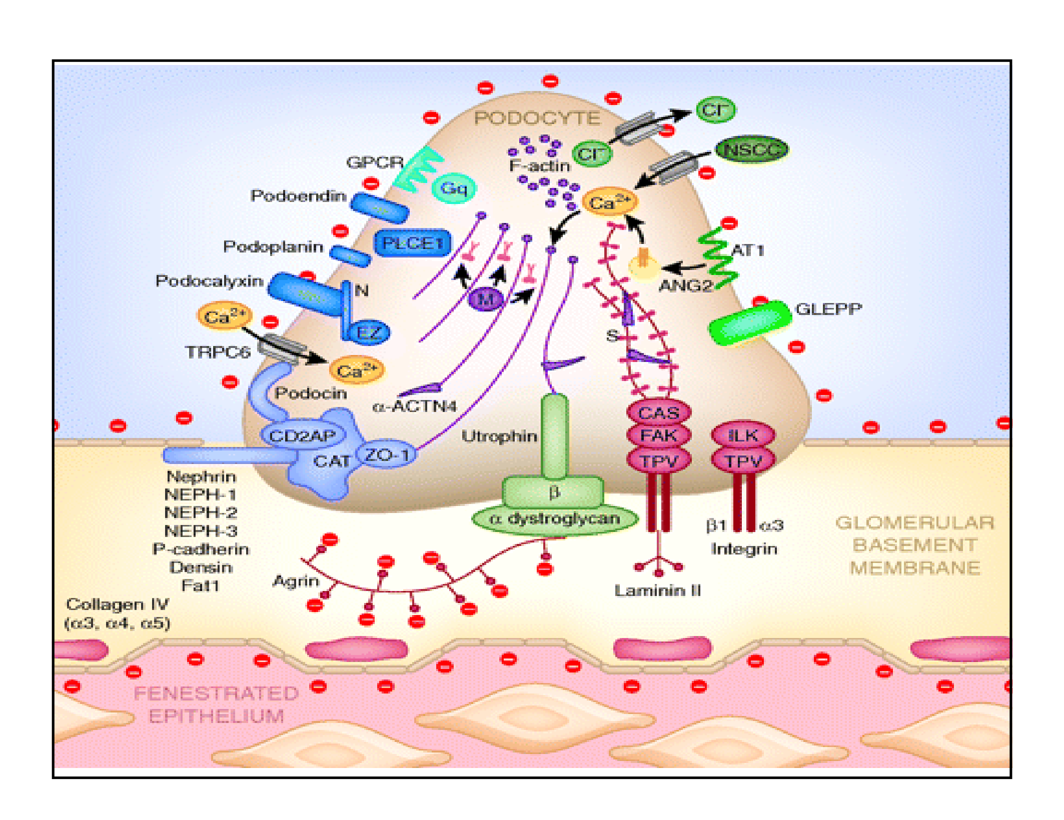
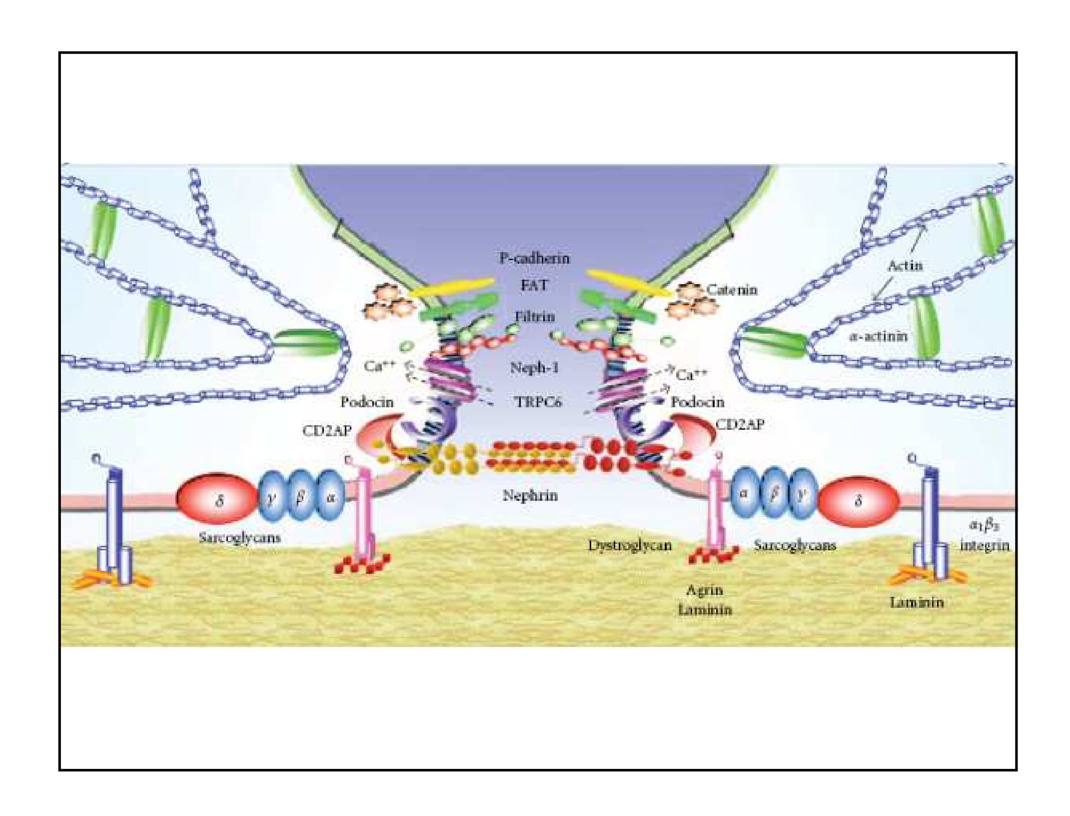
Molécules podocytaires impliquées dans les glomérulopathies héréditaires

Description clinique et aspects génétiques

Hubert Nivet CHU Tours nivet@med.univ-tours.fr
CUEN 18 juin 2012





Gènes (transmission)	localisation de la protéine	locus	Phénotype
NPHS1/Néphrine (AR)	Podocyte et diaphragme de fente	19q13.1	syndrome néphrotique congénital
NPHS2/Podocine (AR)	Podocyte et diaphragme de fente	1q25-q31	syndrome néphrotique précoce de l'enfant
CD2AP (AD)	Podocyte et diaphragme de fente	6q12.3	HSF de l'adulte
WT1/ (AD)	Podocyte	11p13	Syndromique avec HSF
Mitochondries	Mitochondriale	ADNmt	Syndromique
ACTN4/a-actinin 4(AD)	Podocyte	19q13	HSF de l'Adulte
TRPC6 (AD)	Podocyte	11q21-q22	HSF de l'adulte
PLCE1 (AR)	Podocyte	11q23-q24	SMD, HSF
LMX1B (AD)	Podocyte	9q34.1	SN syndromique, dysplasie du squelette
SMARCAL1 (AR)	Podocyte	2q34-q36	Syndromique et anomalies du squelette
LAMB2 (AR)	membrane basale glomérulaire	3p21	Syndromique avec SMD, HSF isolée
SCARB2 (AR)	lysosome	4q21.1	HSF syndromique
MYH9 (complexe)	Podocyte	22p	HSF idiopathique ou syndromique
MYO1E (AR)	Podocyte	15q21	HSF idiopathique de l'enfant
INF2 (AD)	Podocyte	14q32	HSF de l'adolescent et de l'adulte HSF de la maladie de Charcot-Marie Tooth
ADNmt	Mitochondries	ADNm	HSF syndromique
inconnu (AR)	inconnu	inconnu	Syndrome de Galloway-Mowat
APOL1 (AD)	Podocyte?	22p	Risque d'HSF chez les africains

Le podocyte

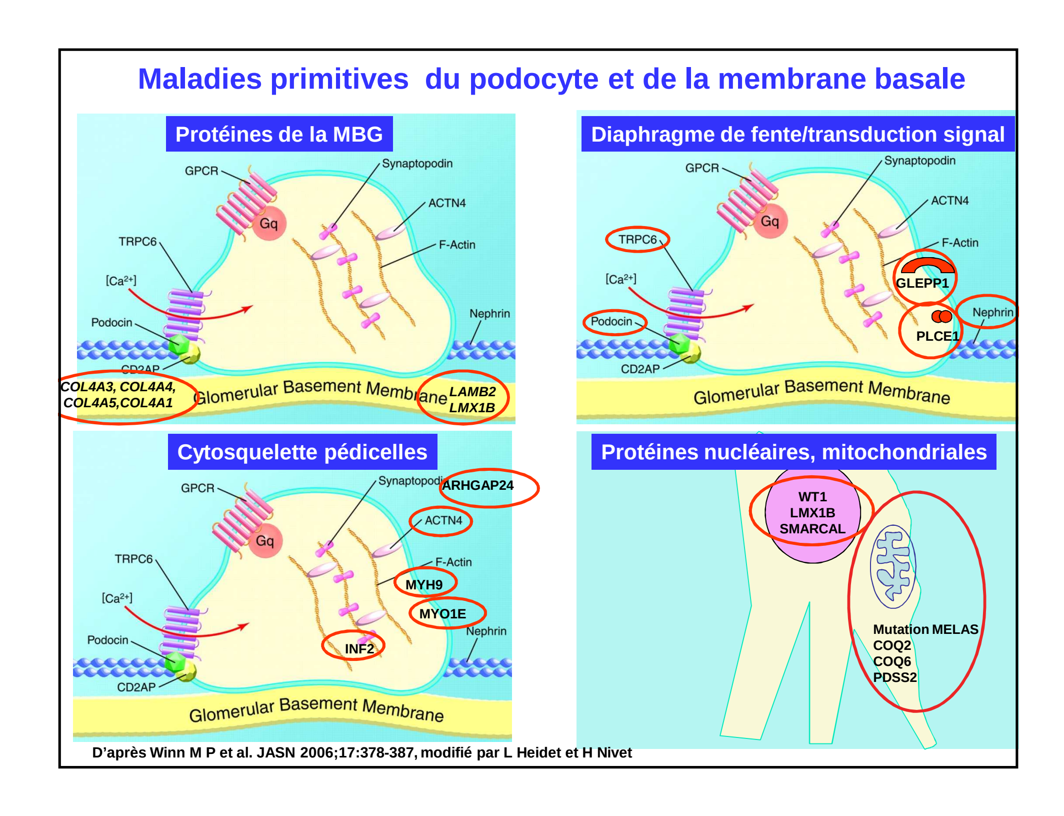
- Une cellule pivot de la filtration glomérulaire
- Ne se reproduit pas
- Cytosquelette des plus complexes de l'organisme, interactions des composants
- Gènes propres ou partagés
  - Maladies syndromiques ou non
  - Polymorphismes potentiels multiples
- Son apoptose responsable de HSF ou FGSF

« Clinique » du podocyte

- Syndrome néphrotique
- Protéinurie isolée
  - HTA
  - Insuffisance rénale chronique
- Formes syndromiques nombreuses
- Certitude diagnostique
  - Biopsie
  - Histoire clinique typique
  - Mutation identifiée

HSF: secondaire ou primitive ?

- **HSF secondaire à la réduction néphronique**
  - Rôle de l'hyper filtration
  - Facteurs hémodynamiques
  - Fragilisation de la membrane glomérulaire
  - Étiologies
    - Hypoplasie rénale
    - Glomérules restants des glomérulopathies (IgA,lupus,SHU..)
    - Diabète, obésité, apnées du sommeil, glycogénose
    - Atteintes virales ; HIV
    - Toxiques: héroïne, lithium...
  - Les frontières: atteinte héréditaire de la membrane basale
    - Alport, HANAC syndrome, Nail-patella syndrome….



HSF primitive: une podocytopathie

- Clinique: 3 présentations
  - Syndrome néphrotique
  - Syndrome complexe et découverte secondaire de protéinurie
  - Protéinurie isolée
- Anapath: HSF , FSGF ou sclérose mésangiale diffuse (SMD)
- Classification
  - à partir de la clinique difficile
    - Forme syndromique
    - Syndrome néphrotique isolé
    - Protéinurie (HTA ,IRC,syndrome néphrotique retardé
  - À partir de la génétique: peu réaliste aujourd'hui
  - Un composite des 2 en fonction de l'âge et du contexte

Syndrome néphrotique d'emblée

Néonatale et avant 1 an → Recherche mutation → *NPHS1 NPHS2*

Enfant
Adolescent
Adulte

LGM ou HSF corticosensible → Facteur circulant

LGM ou HSF corticorésistante → - Facteur circulant
→ - Mutation gène podocytaire

Protéinurie progressive,
HTA ,IRC +/- syndrome néphrotique tardif

Enfant
Adolescent
Adulte

HSF Secondaire ou mutation d'un gène < Membrane basale / Podocyte / mitochondrie

Syndrome néphrotique « finlandais »

- Mutation de *NPHS1* codant pour la néphrine
- Transmission autosomique récessive
- Clinique
  - Gros placenta
  - Syndrome néphrotique néonatal sévère
  - Évolution sans traitement: HSF ,IRCT et décès
  - Traitement
    - Blocage SRA (IEC+sartan)
    - AINS
    - Perfusions d'albumine
    - Binephrectomie
    - Transplantation rénale
  - Il existe des formes d'évolution plus prolongée sensible au traitement conservateur

Morgan (1)

- Naissance à domicile en 1/2007
- Infection néonatale et polyglobulie, oedèmes
- Thrombose de la veine rénale droite étendue à la veine cave, transfert au CHU de Tours
- Diagnostic: syndrome néphrotique congénital compliqué de thrombose
- Traitement:
  - Anticoagulation: héparine et relais Previscan°3mg/ j
  - Perfusion quotidienne d'albumine 3g/Kg/J
  - Lopril: 5 mg/KG/j arrêt pour œdème angioneurotique à 6 mois
  - Irbesartan 5 mg/Kg/J
  - Indocid: 5 mg/Kg/J
  - Supplémentation: Fer, L Carnitine, Thyroxine,Epo,aspegic,uvesterol,IPP

Morgan (2)

- Mutations Heterozygote composite (exon 12)de *NPHS1*
  - C.1555>T(p.Pro519Ser)
  - C.1583>T(p.Cys528Phe)
- Evolution
  - Perfusions d'albumine espacées à 14 mois puis retrait du KT
  - Novembre 2011 : # 5 ans
    - Taille et poids normaux
    - Protéinurie:0.9g/L: 200mg/mmol de créatinine
    - Albuminémie: 29 g/L, protides: 54 G/L
    - Créatinine: 37µmol/L , FG:138 ml/mn/1.73m^2

Mutation de *NPHS2 codant pour la podocine*

- Age d'apparition :quelques semaines à 12 mois
- Transmission autosomique récessive
- Possibilité de formes adultes chez hétérozygote+variant R229Q
- Prise en charge: idem Néphrine
- Pas de récidive sur le greffon

Anaya

- Née en 7/2007
- Syndrome néphrotique apparu à 8 mois
  - Corticothérapie inefficace
  - IEC, ARA2, Indocid, perfusion d'albumine, gastrostomie
  - PBR 7/2008 (1 an) glomerules scléreux /HSF33%
  - Diagnostic génétique en 7/2008 le soir de la PBR!
    - Hétérozygote composite pour *NPHS2*
      - C.634C>T(p.Gln215X) dans l'exon 5 (maman)
      - C.419delG(p.Gly140fs180X) dans l'exon 3 (papa)
- Insuffisance rénale progressive
- Dialyse péritonéale à 2 ans ½
- Nutrition par gastrostomie
- Binéphrectomie (chirurgie mini invasive) à 4 ans
- Transplantation rénale 4/11/2011 à 4 ans ½ et 12Kg
- Créatinine: 60µmol/L, protéinurie:0

Syndrome néphrotique d'emblée

Néonatale et avant 1 an → Recherche mutation → *NPHS1 NPHS2*

Enfant
Adolescent
Adulte

LGM ou HSF corticosensible → Facteur circulant

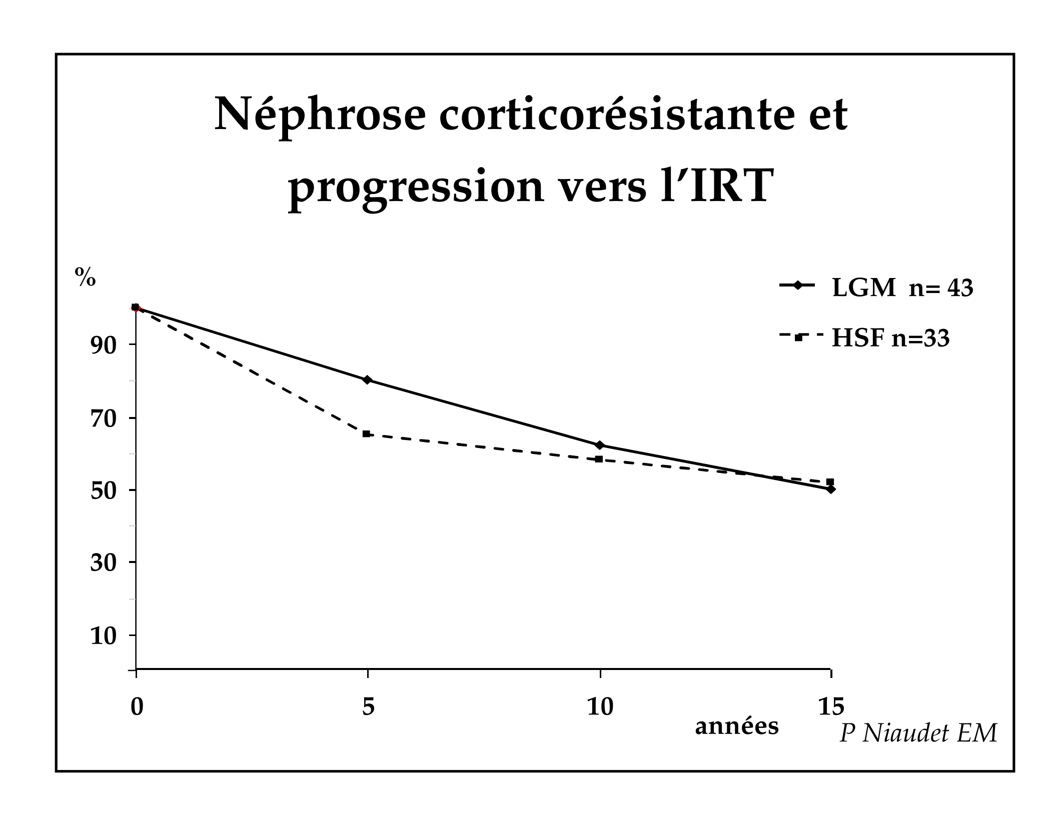
LGM ou HSF corticorésistante → - Facteur circulant
→ - Mutation gène podocytaire

Protéinurie progressive,
HTA ,IRC +/- syndrome néphrotique tardif

Enfant
Adolescent
Adulte

HSF Secondaire ou mutation d'un gène
- Membrane basale
- Podocyte
- mitochondrie

- Un syndrome néphrotique corticosensible avec des lésions de HSF a la même pronostic que les LGM….
- Un syndrome néphrotique à LGM corticorésistant a un risque majeur d'évoluer vers HSF et IRCT



HSF « primitive »avec SN

- **Le syndrome néphrotique à LGM corticosensible**
  - Théorie du facteur circulant (à trouver!)
  - composante podocytaire avec induction de *c-mip/c-maf*
  - Évolution possible vers HSF
    - Baisse de l'observance, perdus de vue…
    - Toxicité des anticalcineurines
  - Récidive sur le greffon possible, «contrôlable »
- **Le syndrome néphrotique cortico résistant**
  - Récidive sur le greffon +++
    - Même forme avec facteur de résistance aux stéroides?
    - Un autre facteur circulant:suPAR ?
  - Sans récidive sur le greffon: **Podocytopathie**

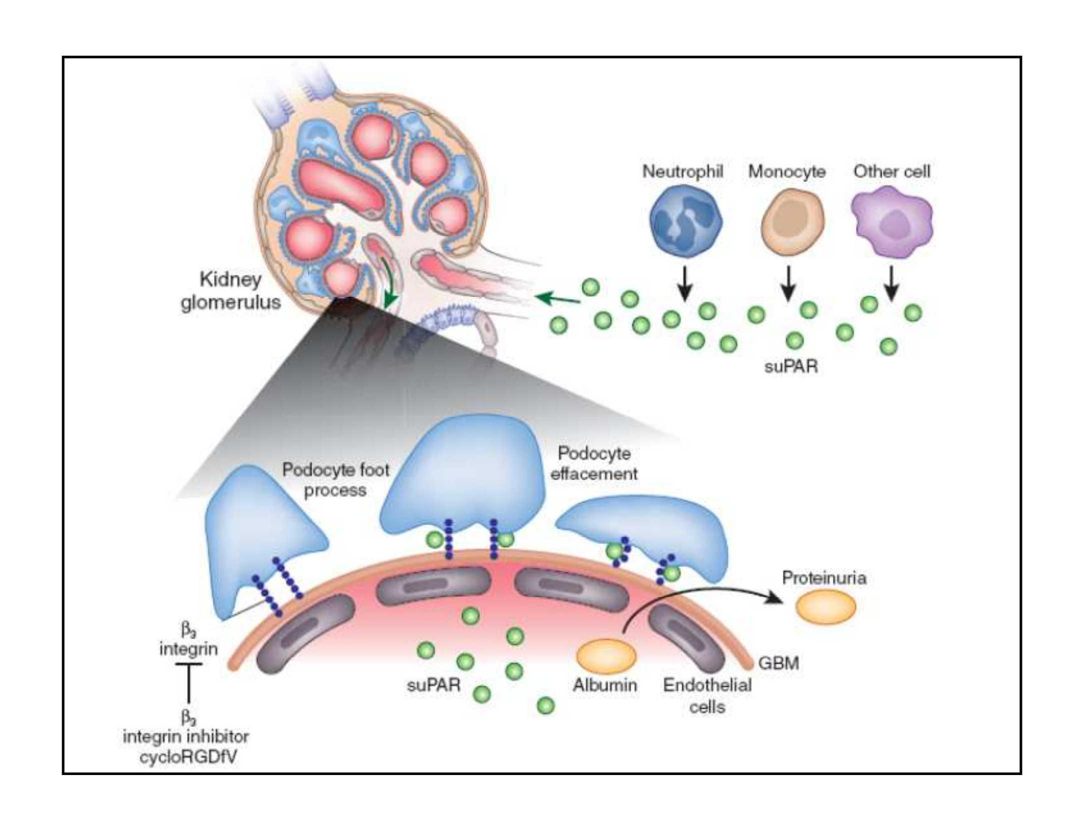
ARTICLES



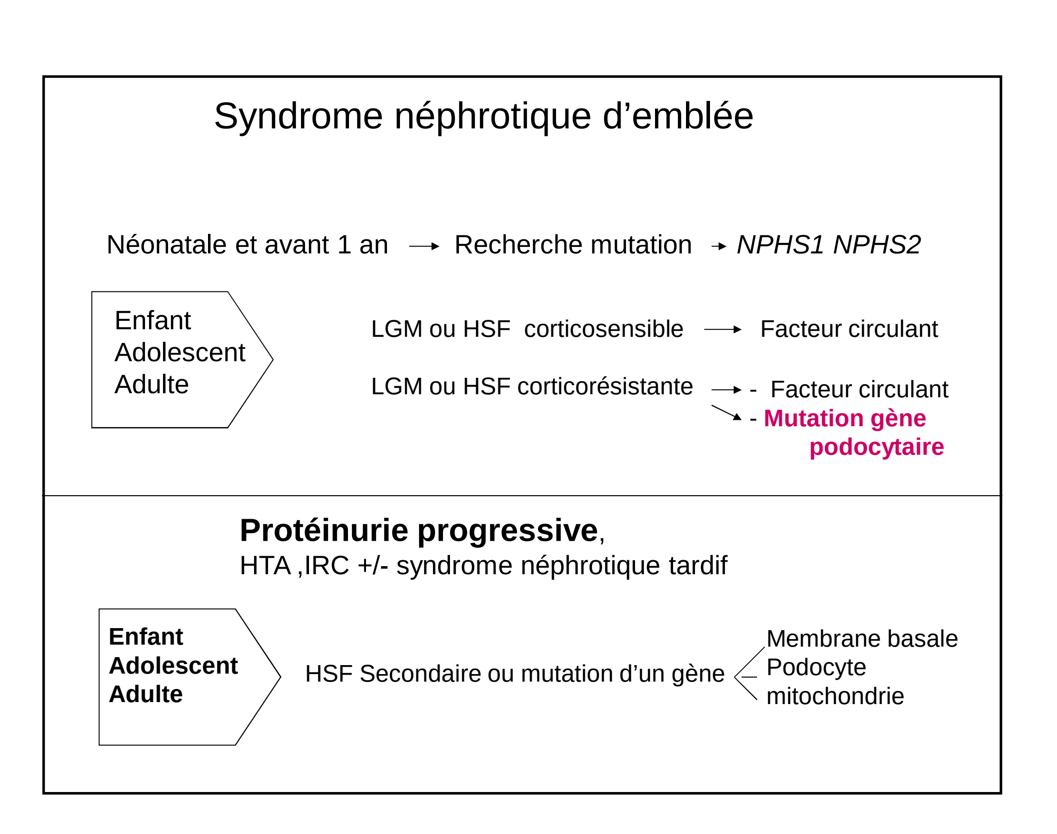
Circulating urokinase receptor as a cause of focal segmental glomerulosclerosis

Changli Wei[1], Shafic El Hindi[1,18], Jing Li[1,18], Alessia Fornoni[1,2,18], Nelson Goes[3], Junichiro Sageshima[4], Dony Maiguel[1], S Ananth Karumanchi[5], Hui-Kim Yap[6], Moin Saleem[7], Qingyin Zhang[8], Boris Nikolic[3], Abanti Chaudhuri[9], Pirouz Daftarian[10,11], Eduardo Salido[12], Armando Torres[12], Moro Salifu[13], Minnie M Sarwal[9], Franz Schaefer[14], Christian Morath[15], Vedat Schwenger[15], Martin Zeier[15], Vineet Gupta[1], David Roth[1], Maria Pia Rastaldi[16], George Burke[4], Phillip Ruiz[4,17] & Jochen Reiser[1]

2011, 17:952-960



Kidney glomerulus
Neutrophil
Monocyte
Other cell
suPAR
Podocyte foot process
Podocyte effacement
Proteinuria
β_3 integrin
β_3 integrin inhibitor cycloRGDfV
suPAR
Albumin
Endothelial cells
GBM



Syndrome néphrotique d'emblée
Néonatale et avant 1 an → Recherche mutation → *NPHS1 NPHS2*
Enfant
Adolescent
Adulte
LGM ou HSF corticosensible → Facteur circulant
LGM ou HSF corticorésistante → - Facteur circulant
- **Mutation gène podocytaire**
Protéinurie progressive,
HTA ,IRC +/- syndrome néphrotique tardif
Enfant
Adolescent
Adulte
HSF Secondaire ou mutation d'un gène
Membrane basale
Podocyte
mitochondrie

Rechercher une mutation dans un SNCR de l'enfant et de l'adulte

- *NPHS1* (Santin S Kidney Int 2009:76:1268-76)
  - Adolescent: 13%
  - Adulte : 1%
- *NPHS2 et le variant R229Q*

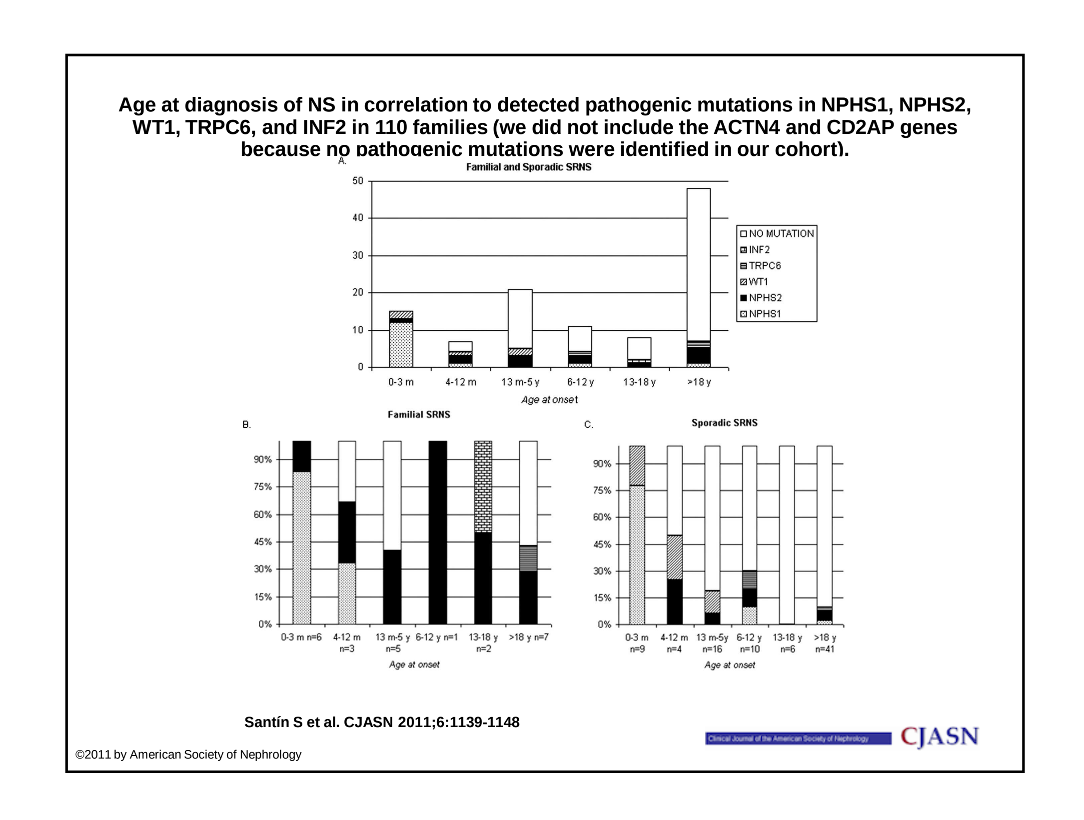
Clin J Am Soc Nephrol. 2011 May;6(5):1139-48. Epub 2011 Mar 17.

Clinical utility of genetic testing in children and adults with steroid-resistant nephrotic syndrome.

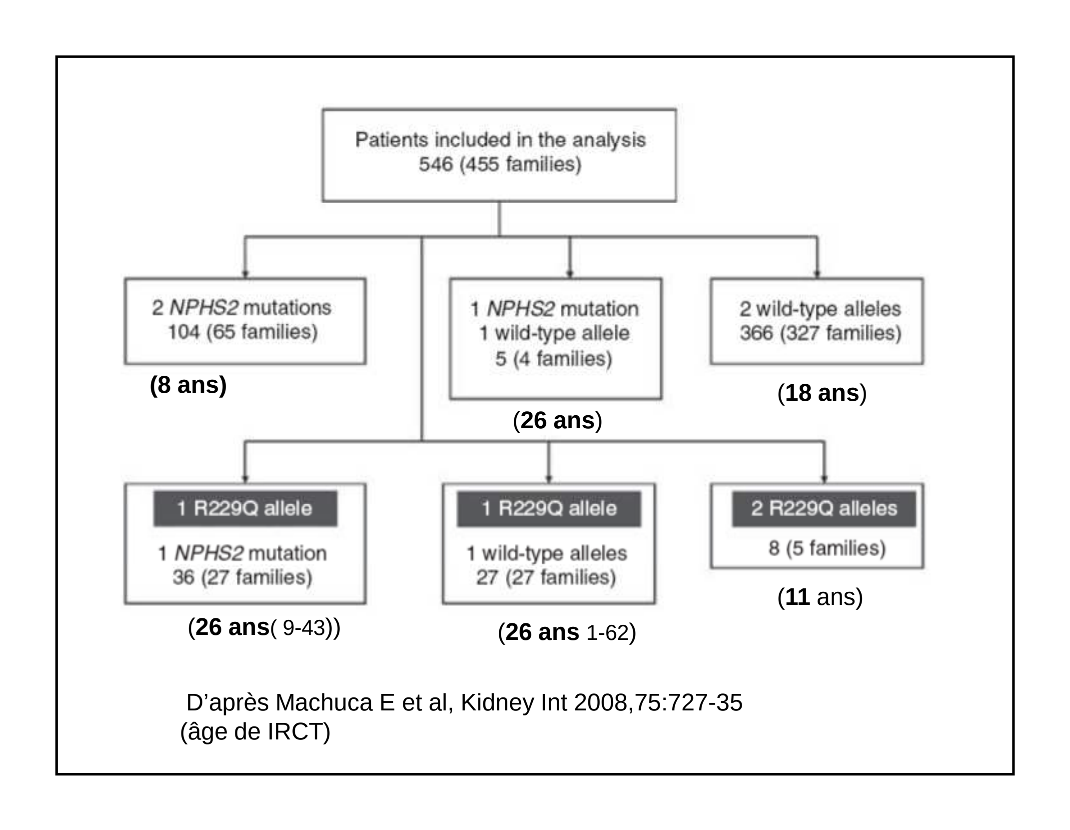
Santín S, Bullich G, Tazón-Vega B, García-Maset R, Giménez I, Silva I, Ruíz P, Ballarín J, Torra R, Ars E.

Molecular Biology Laboratory, Fundació Puigvert, Universitat Autònoma de Barcelona, REDinREN, Instituto de Investigación Carlos III, Barcelona, Spain.

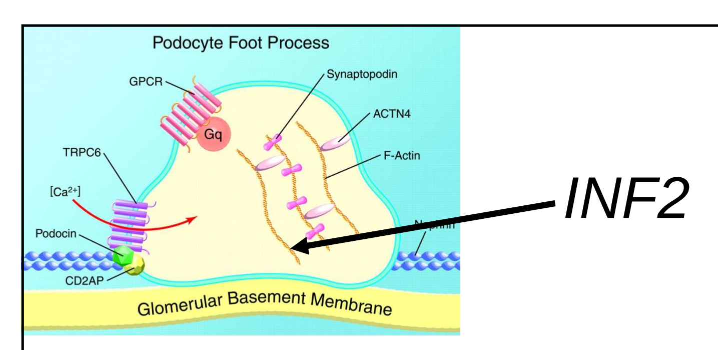
110 patients:mutations pour 34%
- 67% formes familiales, 25% cas sporadiques
- 100% des formes congénitales
- 57% des formes de 4 à 12 mois
- 36% des formes de 1 à 5 ans
- 25% des formes de l'adolescent
- 14 % des formes de l'adulte



Age at diagnosis of NS in correlation to detected pathogenic mutations in NPHS1, NPHS2, WT1, TRPC6, and INF2 in 110 families (we did not include the ACTN4 and CD2AP genes because no pathogenic mutations were identified in our cohort).
A.
Familial and Sporadic SRNS
NO MUTATION
INF2
TRPC6
WT1
NPHS2
NPHS1
0-3 m
4-12 m
13 m-5 y
6-12 y
13-18 y
>18 y
Age at onset
B.
Familial SRNS
0-3 m n=6
4-12 m n=3
13 m-5 y n=5
6-12 y n=1
13-18 y n=2
>18 y n=7
Age at onset
C.
Sporadic SRNS
0-3 m n=9
4-12 m n=4
13 m-5y n=16
6-12 y n=10
13-18 y n=6
>18 y n=41
Age at onset
Santín S et al. CJASN 2011;6:1139-1148
©2011 by American Society of Nephrology
CJASN



Patients included in the analysis
546 (455 families)
2 NPHS2 mutations
104 (65 families)
(8 ans)
1 NPHS2 mutation
1 wild-type allele
5 (4 families)
(26 ans)
2 wild-type alleles
366 (327 families)
(18 ans)
1 R229Q allele
1 NPHS2 mutation
36 (27 families)
(26 ans(9-43))
1 R229Q allele
1 wild-type alleles
27 (27 families)
(26 ans 1-62)
2 R229Q alleles
8 (5 families)
(11 ans)
D'après Machuca E et al, Kidney Int 2008,75:727-35
(âge de IRCT)



- Famille des formines, protéines de régulations de l'actine
- Maintien du cytosquelette
- Transmission AD
  - 17% des cas des familles étudiées
  - 1% de 84 cas sporadiques
- Age d'apparition de la protéinurie
  - 5 à 44 ans , M=26 ans
  - Évolution vers IRCT: 70%

Boyer O et al J Am Soc Nephrol 2011, 22:239-45

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

365;25: 2377-2388; Dec 2011

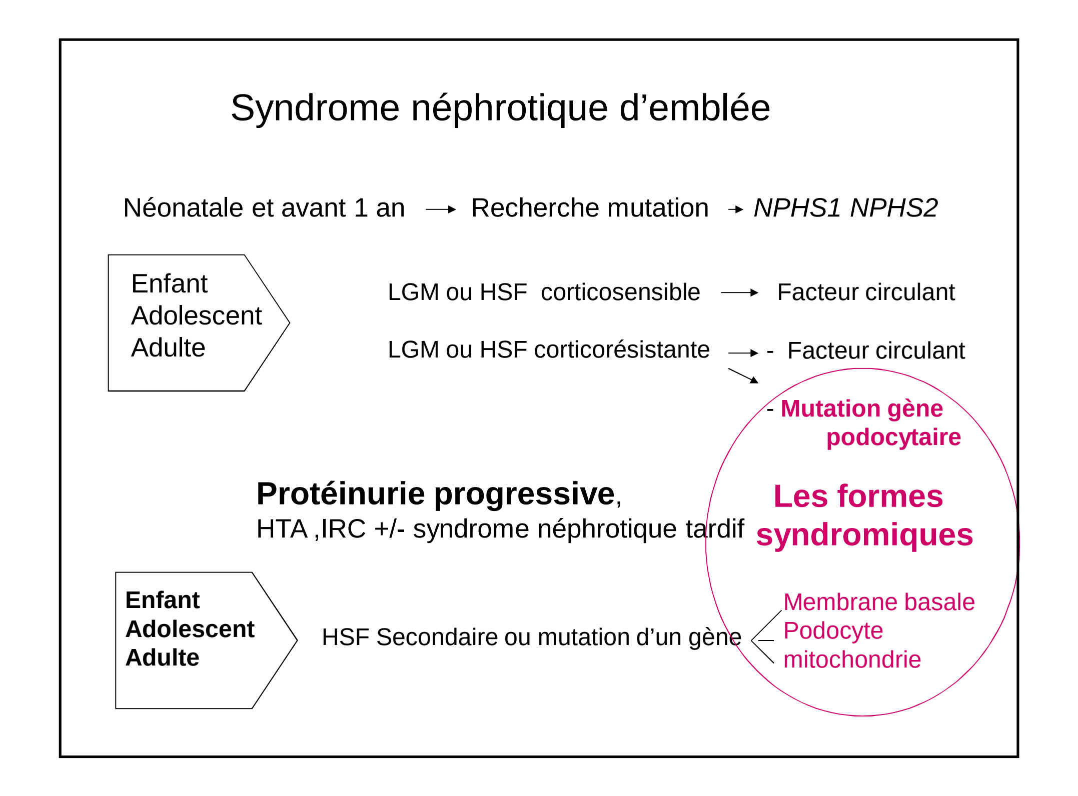
ORIGINAL ARTICLE

INF2 Mutations in Charcot–Marie–Tooth Disease with Glomerulopathy

Olivia Boyer, M.D., Ph.D., Fabien Nevo, M.Sc., Emmanuelle Plaisier, M.D., Ph.D., Benoit Funalot, M.D., Ph.D., Olivier Gribouval, M.Sc., Geneviève Benoit, M.D., Evelyne Huynh Cong, M.Sc., Christelle Arrondel, M.Sc., Marie-Josèphe Tête, M.D., Rodrick Montjean, Ph.D., Laurence Richard, M.Sc., Alexandre Karras, M.D., Claire Pouteil-Noble, M.D., Ph.D., Leila Balafrej, M.D., Alain Bonnardeaux, M.D., Ph.D., Guillaume Canaud, M.D., Christophe Charasse, M.D., Jacques Dantal, M.D., Ph.D., Georges Deschenes, M.D., Ph.D., Patrice Deteix, M.D., Odile Dubourg, M.D., Ph.D., Philippe Petiot, M.D., Dominique Pouthier, M.D., Eric Leguern, M.D., Ph.D., Anne Guiochon-Mantel, M.D., Ph.D., Isabelle Broutin, Ph.D., Marie-Claire Gubler, M.D., Sophie Saunier, Ph.D., Pierre Ronco, M.D., Ph.D., Jean-Michel Vallat, M.D., Miguel Angel Alonso, Ph.D., Corinne Antignac, M.D., Ph.D., and Géraldine Mollet, Ph.D.

INF2 et maladie de Charcot-Marie

- 12/16 (75%) patients avec FSGF
- Formin interacte avec la myéline
- Protéinurie à 18 ans (10 à 21)
- IRCT à 21 ans (12 à 47)
- HSF parfois le premier signe
- Des patients avec un simple pied creux…



Formes syndromique de HSF

- **Alport** **(**surdité, lenticone**..)**
  - *Col4A 3,4,5*
- **Hanac** (**angiopathie,anévrysmes,crampes**)
  - *COL4A1*
- **Nail Patella (ongle,absence de rotule,cornes iliaques..)**
  - *LMX1B*
- **Dysplasie de Schimke (dysplasie immuno osseuse)**
  - *SMARCAL1*
- **Pierson (microcorie,anomalies neurologiques..)**
  - *LAMB2*
- **Denys-Drash,Frasier (pseudo hermaphrodisme, néphroblastome, stries gonadiques)**
  - *WT1*
- **Cytopathies mitochondriales** (muscle,œil,cœur,neuro,surdité…)
  - ADNmt
- **Syndrome de Fechtner** (ex May-Hegglin)**(surdité,macro-thrombocytopénie)**
  - *MYH9*

WT1

- **Syndrome de Denys Drash:**
  - Pseudohermaphrodisme masculin,Syndrome néphrotique précoce, néphroblastome ou sclérose mésangiale
- **Syndrome de Frasier**
  - Phénotype féminin, XY,HSF, dysgénésie gonadique
  - Possibles HSF isolée avec atteinte génitale discrète(XX)

M ..

Né en 08/2005
Consulte à un an pour cryptorchidie
Découvert de 2 gros reins + HTA
Néphroblastome bilatéral mutation tronquante de l'exon 10 de WT1, Denys Drash
- chimiothérapie
- néphrectomie G en 2006 et droite en 2007

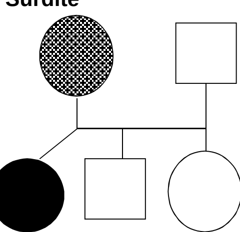
FAV en 1/2007(2ans),alimentation entérale
Hémodialyse sur KT de 2/2007 au 6/2008 puis sur FAV
Transplantation rénale 8/06/2010 (5 ans)

Situation en janvier 2012 (6 ans) taille 113 cm
- Créatinine 78 µmol/l, protéinurie: 0
- Neoral Cellcept
- scolarité normale (CP)

n

Cla…

Macro-thrombocytopénie
Surdité



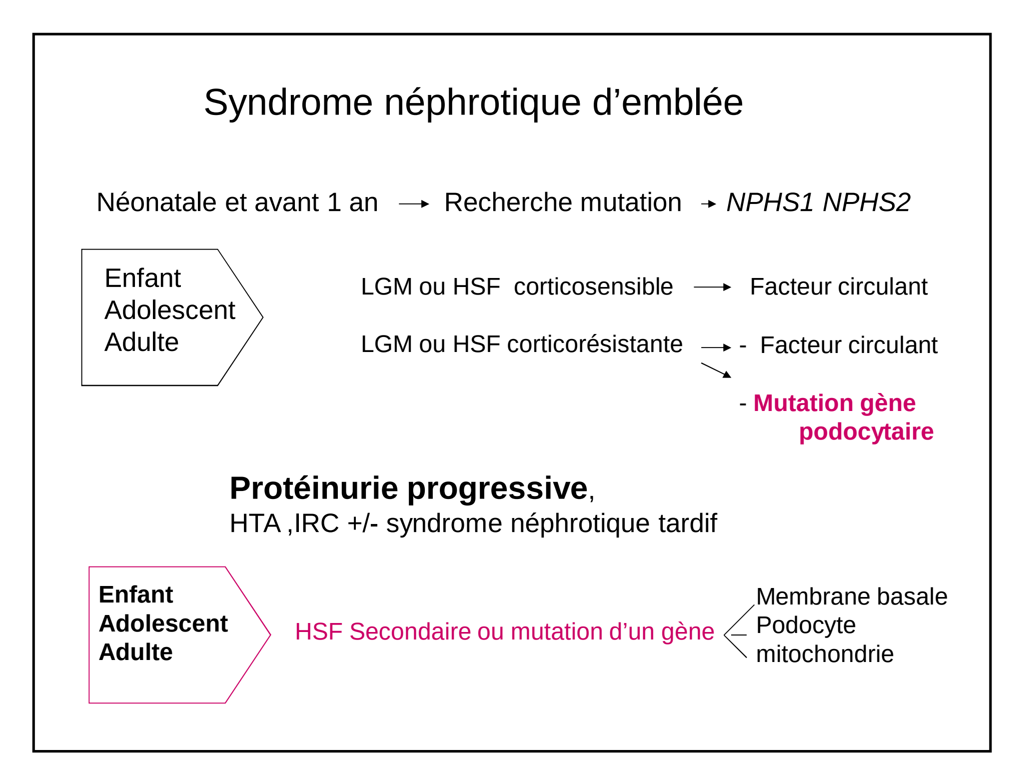
Macro-thrombocytopénie
Surdité
HSF et IRCT
Rétrécissement de la valve pulmonaire
Anisocorie
Anomalies vertébrales

Mutation hétérozygote de MYH9
Transmission AD
Phénotype différent mère fille

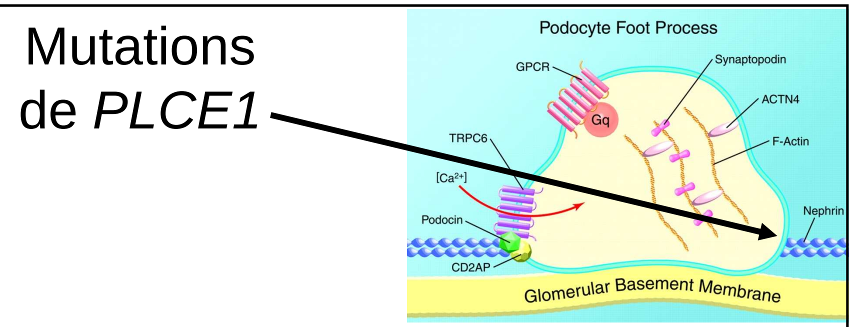
Arrondel C et al. JASN 2002;13:65-74

Formes syndromiques discrètes

- *WT1*
  - Jeunes fille avec HSF, voir les ovaires à l'échographie: stries gonadiques? Risque de gonadoblastome.
- *INF2*
  - Rechercher un pied creux, premier signe d'une maladie de Charcot-Marie
- LMX1B
  - Regarder les ongles, glaucome,dysplasie du coude, cornes iliaques d'un Nail Patella syndrome
- Cytopathie mitochondriale
  - Surdité,cardiopathie,diabète…



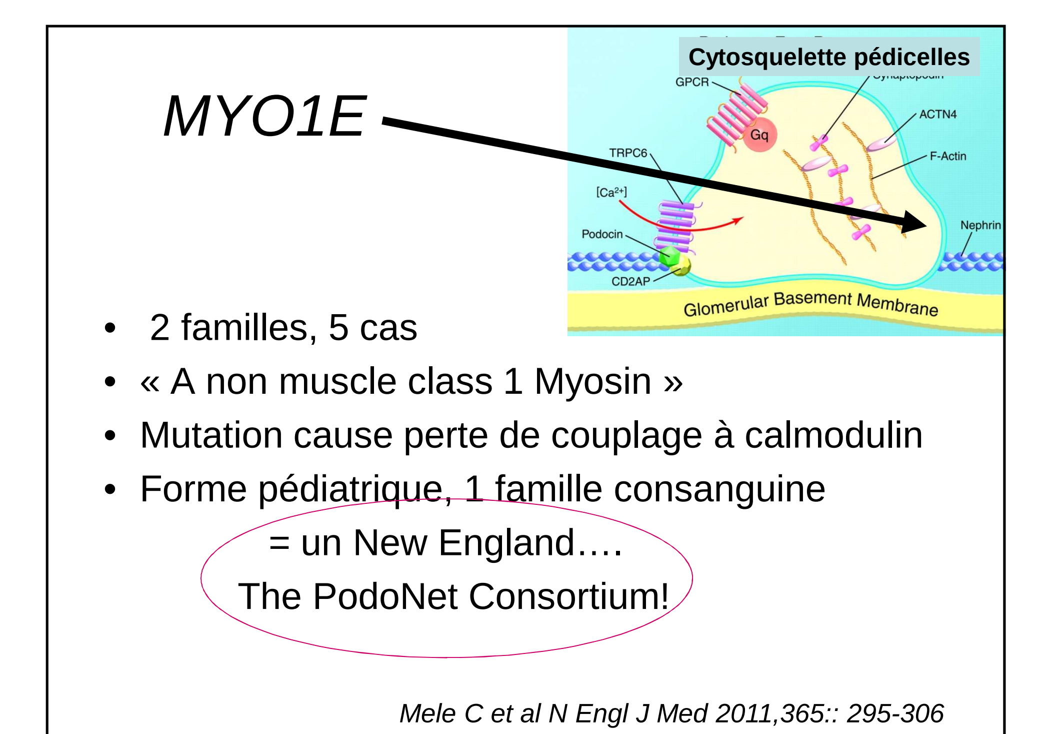
Mutations de *PLCE1*



- Phopholipase C epsilon gene (*NPHS3*)
  - Exprimé dans le podocyte:rôle?
  - Baisse expression de la néphrine
- Syndrome néphrotique précoce (1 mois à 4 ans, IRCT précoce
- SMD ou HSF 14 cas pour 7 familles consanguines
- Certaines formes sensibles aux corticoïdes ou anticalcineurines !
- Turquie, Israël,Russie

Hinkes B et al Nature Genetics,2006,10:1397-1404

MYO1E



- 2 familles, 5 cas
- « A non muscle class 1 Myosin »
- Mutation cause perte de couplage à calmodulin
- Forme pédiatrique, 1 famille consanguine

= un New England….
The PodoNet Consortium!

Mele C et al N Engl J Med 2011,365:: 295-306

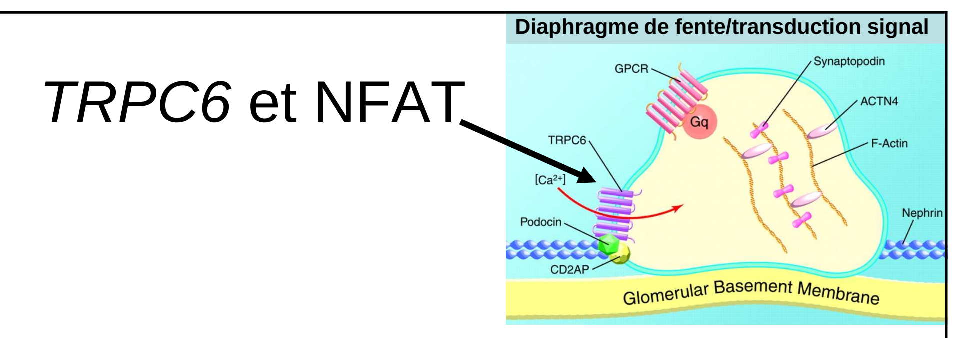
ACTIN4

codant pour α–actinin 4

- Ch 19q13
- 3 familles avec mutations non sens
  - Protéinurie,HSF, IRC à l'âge adulte
  - Pénétrance incomplète
- Cause rare d'HSF
- Mécanisme: altération des filaments d'actine ?

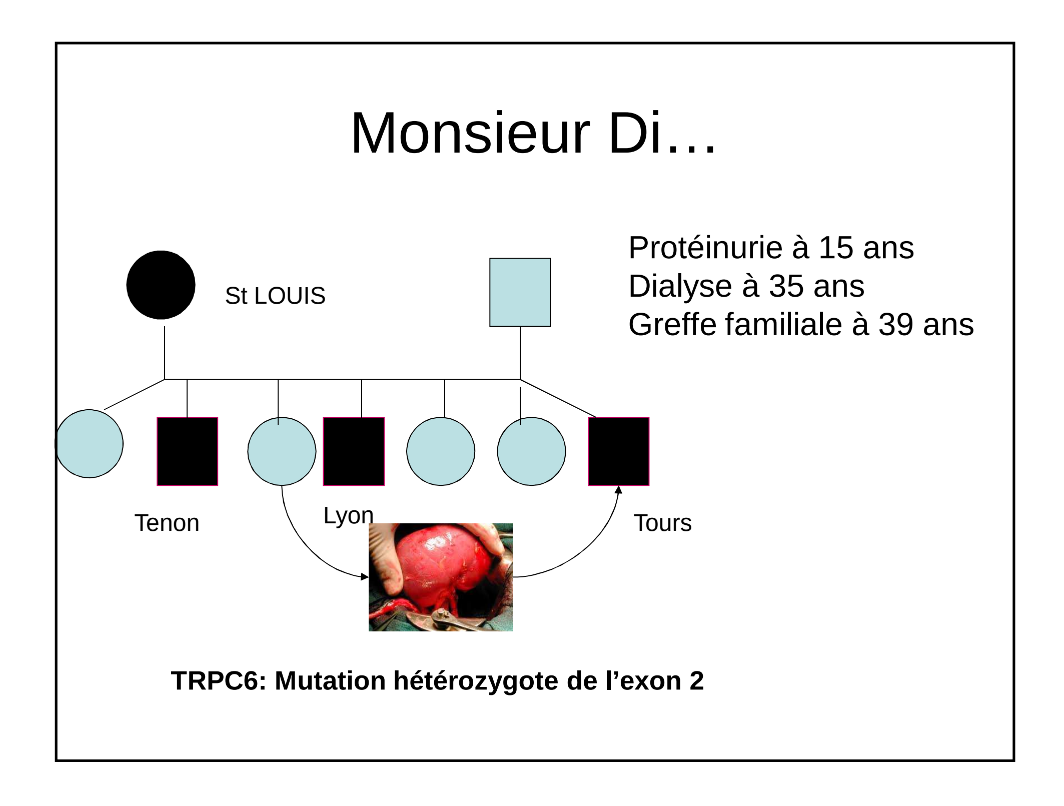
(Kaplan et al., 2000)

TRPC6 et NFAT



- Transient receptor potential canonical (TRPC6)
  - Rôle pour augmenter le calcium intra-cellulaire
  - Couplé à la néphrine
  - Activation de calcineurine et NFAT (nuclear factor of activatedT cell)
- 2 familles en France…
- Explication possible de l'efficacité des anticalcineurines
- Polymorphisme à étudier?

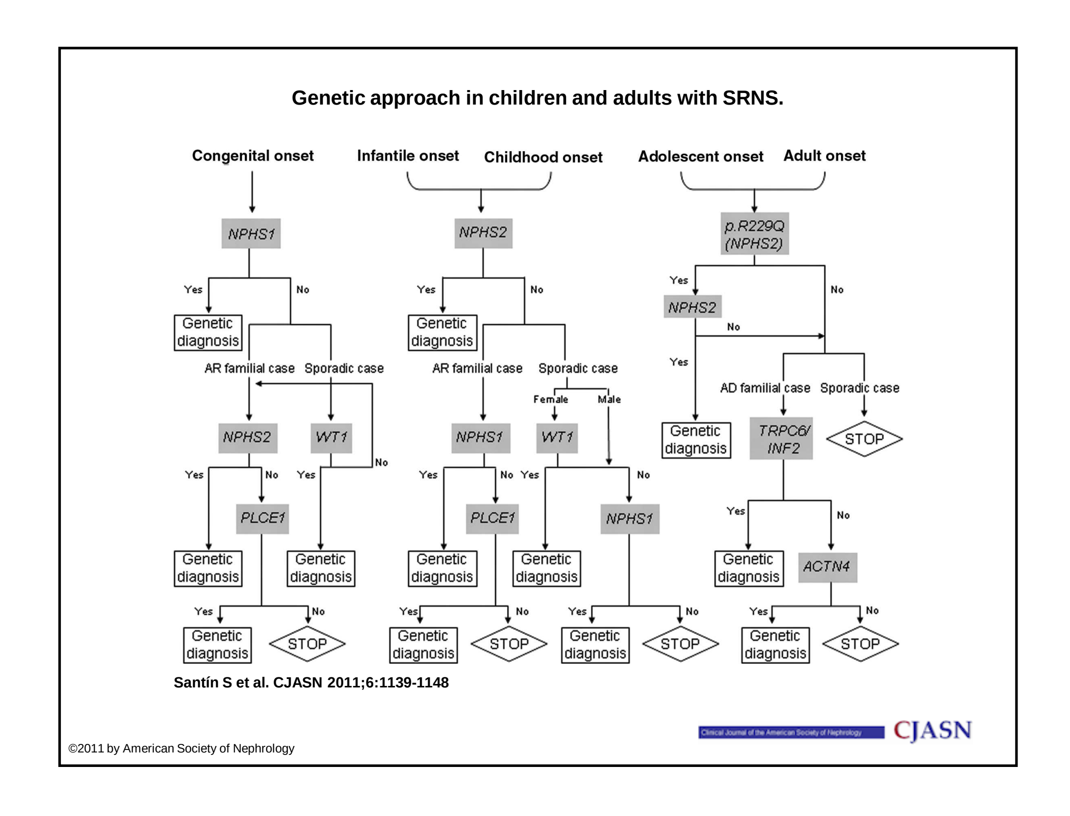
Winn M et al JASN, 2006,17:378-387



Glomerular epithelial protein1(*GLEPP1*)

- Protein Tyrosin phosphatase receptor Type O (PTPRO)
- 2 familles turques consanguines (6 cas)
- Début 5 à 14 ans
- Évolution vers IRCT tardive et rare: 1 cas

Ozaltin F et al Amer J Hum Gen 2011,89:139-147



Risque génétique de HSF ?

- 30% des patients inscrit en liste d'attente pour la transplantation rénale n'ont pas de diagnostic étiologique fiable
  - HSF?
- Les noirs américains ont une incidence de HSF très élevée

Nephrol Dial Transplant (2008) 23: 3146–3151
doi: 10.1093/ndt/gfn208
Advance Access publication 28 April 2008



Original Article

Bigenic heterozygosity and the development of steroid-resistant focal segmental glomerulosclerosis

Marije Löwik[1], Elena Levtchenko[1], Dineke Westra[1], Patricia Groenen[2], Eric Steenbergen[2], Jan Weening[2], Marc Lilien[3], Leo Monnens[1] and Lambert van den Heuvel[1]

[1]Department of Paediatric Nephrology, [2]Department of Pathology, Radboud University Nijmegen Medical Centre and [3]Department of Paediatric Nephrology, Wilhelmina Children's Hospital, University Medical Centre Utrecht, The Netherlands

Des techniques et des idées

- **Techniques**
  - Genome wide association studies :
    identifier des gènes de susceptibilité à des maladies communes
  - Admixture-mapping linkage-desequilibrium
    Localiser des variants différents d'une population à l'autre
- **Idées**
  1 « African american » ont une HSF fréquente
  2 HIVAN chez certains noirs et pas d'autres
  3 FSGS des « american african » localisé sur 22q12
  4 *MYH9* candidat positionnel et fonctionnel
  5 Variants *APOL1* plus fortement associés

Hum Genet (2010) 128:345–350
DOI 10.1007/s00439-010-0861-0

SHORT REPORT

Missense mutations in the *APOL1* gene are highly associated with end stage kidney disease risk previously attributed to the *MYH9* gene

Shay Tzur · Saharon Rosset · Revital Shemer · Guennady Yudkovsky · Sara Selig · Ayele Tarekegn · Endashaw Bekele · Neil Bradman · Walter G. Wasser · Doron M. Behar · Karl Skorecki

Association of Trypanolytic ApoL1 Variants with Kidney Disease in African Americans



Giulio Genovese,[1,2]* David J. Friedman,[1,3]* Michael D. Ross,[4] Laurence Lecordier,[5] Pierrick Uzureau,[5] Barry I. Freedman,[6] Donald W. Bowden,[7,8] Carl D. Langefeld,[8,9] Taras K. Oleksyk,[10] Andrea L. Uscinski Knob,[4] Andrea J. Bernhardy,[1] Pamela J. Hicks,[7,8] George W. Nelson,[11] Benoit Vanhollebeke,[5] Cheryl A. Winkler,[12] Jeffrey B. Kopp,[11] Etienne Pays,[5]† Martin R. Pollak[1,13]†

Rôle de *APOL1* dans HSF?

- Filtrée, réabsorbée,mais rôle inconnu
- Rôle dans:
  - Métabolisme lipidique
  - physiologie vasculaire
  - autophagie……
- L'incidence élevée de dysfonction des greffons avec les 2 variants suggère un rôle podocytaire…

Quagin SE et al J Am Soc Nephrol 2011,22:1955-62

En pratique (1)

- Les formes néphrotiques d'emblée
  - Avant 1 an (podocine et néphrine)
  - Tout âge:
    - Les SN cortico sensibles n'ont pas de mutation connue spécifique d'un gène du podocyte
    - Les formes corticosensibles récidivantes
      - Facteurs circulants ?
      - suPAR?
      - Autre chose

En pratique (2)

- **Les formes familiales et/ou syndromiques doivent être explorées**
- **Les syndromes néphrotiques isolés cortico résistants enfant et adulte:**
  - **recherche du variant R229Q discutable**
- **Les formes évoluant progressivement de protéinurie vers SN avec HSF d'emblée sont**
  - **les meilleurs candidates aux mutations du podocyte**
    - **Variant R229Q + hétérozygote de *NPHS2***
    - ***INF2, ACTN 4, TRPC6….***
  - **Recherche si forme familiale**
  - **Recherche non recommandée si forme isolée**

En pratique (3)

Penser aux formes syndromiques discrètes

- *WT1*
  - Jeunes fille avec HSF, voir les ovaires à l'échographie: stries gonadiques? Risque de gonadoblastome.
- *INF2*
  - Rechercher un pied creux, premier signe d'une maladie de Charcot-Marie
- LMX1B
  - Regarder les ongles, glaucome,dysplasie du coude, cornes iliaques d'un Nail Patella syndrome
- Cytopathie mitochondriale
  - MELAS:surdité,diabète,rétinopathie,myopathie..)

Le futur ….

Prochaine étape:

la découverte du (ou des) facteur(s) circulant(s) du syndrome néphrotique idiopathique

Prochain outil

le séquenceur à 100 euros…ou moins

Avec le mode d'emploi!

Le Podocyte garde un gros potentiel de découvertes